



ESTUDIO OBSERVACIONAL RETROSPECTIVO DE LAS INFECCIONES POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* (2015-2019) EN EL PACIENTE ONCOLÓGICO PALIATIVO

RETROSPECTIVE OBSERVATIONAL STUDY OF *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTIONS (2015-2019) IN THE PALLIATIVE ONCOLOGY PATIENT

Tomás García-Lozano^{a*}, Carla Giménez-Rodríguez^b, Andrés Juan-Orduña^c,
José Ángel García-García^d y Salvador Martín-Utrilla^e

Fechas de recepción y aceptación: 16 de noviembre de 2020 y 21 de enero de 2021

RESUMEN

Introducción: *Clostridium difficile* es un bacilo grampositivo principal causante de diarrea asociada al tratamiento con antimicrobianos en países desarrollados y es el principal origen de morbilidad y mortalidad de enfermedad nosocomial en todo el mundo (Infección por *Clostridium difficile*, ICD). Produce toxinas que provocan la pérdida de la barrera epitelial y la aparición de pseudomembranas, lo que lleva a la aparición de síntomas como la diarrea, fiebre o dolor abdominal. Los antibióticos más eficaces para tratar la infección es la vancomicina y la fidaxomicina. Los casos de infección en pacientes oncológicos paliativos presentes en unidades de hospitalización domiciliaria son minoritarios comparados con las infecciones producidas en hospitales. *Objetivo/s:* El objetivo de este artículo ha sido analizar el número de casos de ICD en pacientes oncológicos desde mayo de 2015 a octubre de 2019. *Material*

^a Médico adjunto en microbiología. Fundación Instituto Valenciano de Oncología (FIVO).

* Correspondencia: Fundación Instituto Valenciano de Oncología. Servicio de Laboratorio de Diagnóstico Clínico. Calle Gregorio Gea, 31. Edificio nuevo-Cuarta Planta. 46009 Valencia. España.

E-mail: tglmicro@gmail.com

^b Estudiante de Grado en Bioquímica y Ciencias Biomédicas. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Valencia.

^c Técnico del Instituto Valenciano de Patología (IVP).

^d Director Instituto Valenciano de Patología (IVP).

^e Médico adjunto. Unidad de Cuidados Paliativos. Fundación Instituto Valenciano de Oncología (FIVO).



y Métodos: Se realizó un estudio descriptivo observacional de un total de 1290 pacientes oncológicos en los que se estudió la detección del antígeno de *Clostridium difficile* (GDH, glutamato deshidrogenasa). El periodo de estudio fue desde mayo de 2015 a octubre de 2019. Se analizaron un total 1290 heces/paciente para la detección de presencia de *Clostridium difficile*. 1149 fueron negativos (GDH negativo) y 141 fueron positivos (GDH positivo). La técnica utilizada para la detección de *Clostridium difficile* fue *Clostridium difficile* antigen GDH card de la compañía CerTest Biotec® (Zaragoza, España). Esta técnica es un inmunoensayo cualitativo para la detección de antígeno de glutamato deshidrogenasa (GDH) en muestras de heces humanas. Como técnica confirmatoria se usó el ensayo BD Max Cdiff Assay de la compañía BD Diagnostics® (Sparks, Maryland). Esta técnica consiste en un ensayo de PCR en tiempo real para la detección de los genes *tcdA* y *tcdB* de *Clostridium difficile*. *Resultados:* De un total de 1290 detecciones de GDH en 1290 pacientes distintos desde mayo de 2015 a octubre de 2019, se registraron un total de 1149 GDH negativos y 141 GDH positivos. Del total de estos 141 GDH positivos, la distribución por años fue de 24 en 2015, 53 en 2016, 22 en 2017, 22 en 2018 y 20 en 2019. De los 141 casos GDH positivos, se detectaron mediante técnicas de biología molecular (*Clostridium difficile* toxigénico, PaLoc positivo) 11 en 2015 (45,83 %), 24 en 2016 (45,28 %), 8 en 2017 (36,36 %), 9 en 2018 (40,90 %) y 8 en 2019 (40 %). *Conclusiones:* La ICD es una enfermedad con una considerable morbimortalidad. Por eso, su diagnóstico preciso es vital para el manejo del paciente y para el control de infecciones.

Palabras clave: *Clostridium difficile*, PCR, pacientes oncológico paliativo.

ABSTRACT

Introduction: *Clostridium difficile* is a gram-positive bacillus, the main cause of diarrhea associated with antimicrobial treatment in developed countries and is the main source of morbidity and mortality from nosocomial disease worldwide (*Clostridium difficile* infection, CDI). It produces toxins that cause the loss of the epithelial barrier and the appearance of pseudomembranes, leading to the appearance of symptoms such as diarrhea, fever or abdominal pain. The most effective antibiotics to treat the infection are vancomycin and fidaxomicin. The case of infection in palliative cancer patients present in home hospitalization units are a minority compared to infections produced in hospitals. *Objetives:* The objectives of the article has been to analyze the number of cases of CDI in cancer patients from May 2015 to October 2019. *Material and methods:* A descriptive observational study of a total of 1290 tools of cancer patients was carried out in which the detection of the *Clostridium difficile* antigen (GDH, glutamate deshydrogenase) was studied. The study period was from May 2015 to October 2019. A total of 1290 stools/patient were analyzed for the presence of *Clostridium difficile*. 1149 were negative (GDH negative) and 141 were positive (GDH positive). The technique used for the detection of *Clostridium difficile* was *Clostridium difficile* antigen GDH card from the company CerTest Biotec® (Zaragoza, Spain). This technique is a qualitative immunoassay for the detection of glutamante deshidrogenase (GDH) antigen in human stool samples. As a confirmatory technique, the BD Max Cdiff Assay from the company BD Diagnostics® (Sparks,



Maryland) was used. This technique consists of real-time PCR assay for the detection of the *Clostridium difficile* *tcdA* and *tcdB* genes. *Results*: Out of a total of 1290 GDH detections in 1290 different patients from May 2015 to October 2019, a total of 1149 negative GDH and 141 positive GDHs, the distribution by years was 24 in 2015, 53 in 2016, 22 in 2017, 22 in 2018 and 20 in 2019. Of the 141 positive GDH cases, they were detected using molecular biology techniques (*Clostridium toxigenic difficile*, PaLoc positive) 11 in 2015 (45,83 %), 24 in 2016 (45,28 %), 8 in 2017 (36,36 %), 9 in 2018 (40, 90 %) and 8 in 2019 (40 %). *Conclusions*: CDI is a disease with considerable morbidity and mortality. Therefore, its accurate diagnosis is vital for patient management and for infection control.

Keywords: *Clostridium difficile*, PCR, oncologic palliative patient.

INTRODUCCIÓN

Actualmente la infección por *Clostridium difficile* (ICD) se considera la principal causa de diarrea nosocomial en los países desarrollados y cada vez alcanza más relevancia como agente etiológico en diarreas comunitarias e infecciones relacionadas con los cuidados sanitarios (IRAS)¹.

Clostridium difficile es un bacilo grampositivo (*fig. 1*) anaerobio estricto y esporulado que forma parte de la flora fecal normal en el 1-3 % de la población². El contagio se produce en entornos contaminados por esporas en ambientes hospitalarios².

C. difficile causa diarrea. El cuadro sindrómico de infección puede ser: colitis, colitis pseudomembranosa, colitis fulminante y megacolon tóxico. Esta infección aparece como consecuencia de la ingestión de esporas que resisten a la acción del ácido gástrico. Germinan en el intestino y colonizan el colon, donde producen toxinas (A, B o binaria), con una pérdida inicial de la barrera epitelial, aparición de diarrea y formación de pseudomembranas (placas amarillo-grisáceas)³.

Las cepas de *C. difficile* toxigénico presentan un locus de patogenicidad (*Pa-Loc*) donde se encuentran los genes *tcdA* y *tcdB* que codifican para las toxinas A y B, respectivamente. Estas toxinas presentan actividad glucosiltransferasa que causa la interrupción de las fibras de actina de las células que forman el epitelio intestinal y, por tanto, lleva a una disminución de la resistencia transepitelial, lo que provoca que las células epiteliales se desestructuren, se separen entre ellas o incluso mueran, lo que facilita la migración de los neutrófilos hacia el



intestino y contribuye a la respuesta inflamatoria típica de la colitis³. Además, algunas cepas contienen en su *PaLoc* otro gen, el gen *Cdt*, que codifica para la toxina binaria, que está implicada en una mayor toxicidad del microorganismo⁴.

Los síntomas que determinan una ICD son fiebre, dolor abdominal, leucocitosis, hipoalbuminemia y aumento de la proteína C reactiva^{2,5}. Podemos considerar que se trata de una infección grave cuando se encuentra un recuento de leucocitos mayor o igual a 15.000/ μ L y/o cuando el paciente presenta un incremento de creatinina mayor al 50 % del nivel basal. Y hablamos de infección grave complicada si el paciente sufre hipotensión o sepsis y/o hay presencia de íleo paralítico, megacolon tóxico, perforación intestinal o ingreso en UCI.

El diagnóstico se basa en una combinación de criterios clínicos y microbiológicos como son la presencia de diarrea (3 evacuaciones o más diarias durante más de 24 h), la detección positiva de *Clostridium difficile* en pruebas de inmunocromatografía (EIA)/confirmación mediante PCR *Clostridium difficile* (CD) toxigénico/Cultivo CD o hallazgos colonoscópicos, aunque este último prácticamente no se utiliza por la invasibilidad de la técnica².

La Sociedad Europea de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (ESCMID) sugiere un diagnóstico de ICD en 2 o 3 fases⁶. La primera y segunda fase consisten en pruebas de inmunocromatografía (EIA) en heces para la detección de las toxinas A o B, proteínas TcdA y TcdB respectivamente, y para la detección de glutamato deshidrogenasa (GDH), una enzima producida por *Clostridium difficile*; por lo que permite hacer una detección cualitativa del microorganismo. Finalmente, la tercera fase se usa como confirmación de la infección y está basada en técnicas moleculares como la PCR cuantitativa para la detección de los genes causantes de la toxicidad de *C. difficile* (locus de patogenicidad).

A grandes rasgos, el tratamiento de las ICD consiste en suprimir el posible antibiótico o los fármacos desencadenantes y evitar el empleo de fármacos inhibidores del peristaltismo intestinal, entre otros, para finalmente proporcionar un antibiótico contra *C. difficile*⁵. Los fármacos y terapias utilizadas suelen ser vancomicina, fidaxomicina, metronidazol y trasplante de microbioma fecal. La vancomicina (125 mg/6 h) es un antibiótico perteneciente al grupo de los glicopéptidos que se encarga de inhibir la síntesis de pared celular de las bacterias y, por tanto, impedir su división; la fidaxomicina (200 mg/12 h) inhibe



el ARN polimerasa bacteriana y el metronidazol (500 mg/8 h), perteneciente al grupo de los nitroimidazoles, inhibe la síntesis de ácidos nucleicos y, por tanto, inhibe también la división celular de la bacteria. Todos ellos pueden ser utilizados en el tratamiento frente a *C. difficile*, con distintos niveles de evidencia, aunque actualmente consideramos la vancomicina/fidaxomicina superior al metronidazol^{2,5,7}, y se soslaya la posibilidad del uso del trasplante fecal o de microbioma, como técnica especialmente muy útil, eficaz y prometedora, aunque no es motivo de nuestra publicación.

Con respecto al manejo terapéutico y niveles de evidencia en episodios graves o complicados, primera recurrencia o posteriores recurrencias, insto a una segunda publicación y descartamos el motivo de debate en la que presentamos.

OBJETIVO Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El objetivo de este artículo ha sido analizar el número de casos de ICD en pacientes oncológicos desde mayo de 2015 a octubre de 2019. La posibilidad de estudio de las ICD en paciente paliativo tiene especial interés puesto que la presencia de este microorganismo e infección es interesante por dos razones. En primer lugar, el paciente no se encuentra en ambiente hospitalario pero sí está asociado a cuidados sanitarios y, en segundo lugar, la ICD se observa con tratamientos ambulatorios (antibióticos e inhibidores de la bomba de protones).

MATERIAL Y MÉTODOS

El Instituto Valenciano de Oncología es un hospital monográfico de oncología (tumores sólidos y hematológicos) que posee un total de 200 camas sin incluir las 90 pertenecientes a hospitalización domiciliaria.

Se realizó un estudio descriptivo observacional de un total de 1290 pacientes oncológicos en los que se estudió la detección del antígeno de *Clostridium difficile* (GDH, glutamato deshidrogenasa). El periodo de estudio fue desde mayo de 2015 a octubre de 2019.



Se analizaron un total 1290 heces/paciente para la detección de presencia de *Clostridium difficile*. 1149 fueron negativos (GDH negativo) y 141 fueron positivos (GDH positivo).

La técnica utilizada para la detección de *Clostridium difficile* fue *Clostridium difficile antigen GDH card* de la compañía CerTest Biotec® (Zaragoza, España). Esta técnica es un inmunoensayo cualitativo para la detección de antígeno de glutamato deshidrogenasa (GDH) en muestras de heces humanas. En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos frente a GDH. Durante el proceso, la muestra se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar y reacciona con partículas que presentan en su superficie anticuerpos anti-GDH, formando conjugados y precipitando en forma de una banda de color⁸. Se utilizó un test diferente para cada muestra y, antes de realizar la prueba, los test, muestras y diluyente alcanzaron la temperatura ambiente (15-30° C). Para procesar las muestras, se utilizó un vial con diluyente de muestras. Se introdujo el dispositivo recolector dos veces en la muestra de heces para tomar suficiente cantidad de muestra (1-2 g), se cerró el vial con el dispositivo y la muestra, y se agitó para asegurar una buena dispersión. Se rompió la punta del tapón y se dispensaron 5 gotas o 150 µL en el pocillo de muestra del test. Se puso en marcha el cronómetro y se leyeron los resultados a los 10 minutos de dispensar la muestra.

Como técnica confirmatoria se usó el ensayo BD Max Cdiff Assay de la compañía BD Diagnostics® (Sparks, Maryland), el sistema BD Max. Esta técnica consiste en un ensayo de PCR en tiempo real para la detección del gen *tcdB* de *Clostridium difficile*. Este sistema automatiza la extracción de ADN, la amplificación y la detección del gen en una sola plataforma y permite correlacionar la carga bacteriana con la cantidad de toxina⁹. Se sumergió un asa de inoculación desechable de 10 µl en la muestra agitada, se colocó en un tubo de tampón de muestra BD Max que contenía 1,5 ml de tampón, se agitó para liberar la muestra y se desechó. El tubo se selló con una tapa de tabique y se agitó mediante vórtex durante 1 minuto antes de colocarlo en el bastidor del sistema BD Max. Se colocó una tira de reactivo BD Max Cdiff en el bastidor del sistema para cada muestra analizada, al igual que un tubo de extracción BD Max Cdiff y un tubo BD Max Cdiff Master Mix, con un máximo de 24 muestras colocadas inicialmente al mismo tiempo.



La extracción de ADN, que utiliza tecnología de cuentas magnéticas, incluye un control de procesamiento de muestras. Los resultados se informaron como positivos, negativos o PCR inhibidas.

RESULTADOS

De un total de 1290 detecciones de GDH en 1290 pacientes distintos desde mayo de 2015 hasta octubre de 2019, se registraron un total de 1149 GDH negativos y 141 GDH positivos. De estos 141 GDH positivos, la distribución por años fue de 24 en 2015, 53 en 2016, 22 en 2017, 22 en 2018 y 20 en 2019 (tabla 1, figura 2). La distribución por servicios no fue registrada solo y exclusivamente en la UHD (Unidad de Hospitalización Domiciliaria). De los 141 casos GDH positivos, se detectaron mediante técnicas de biología molecular (*Clostridium difficile* toxigénico, *PaLoc* positivo) 11 en 2015 (45,83 %), 24 en 2016 (45,28 %), 8 en 2017 (36,36 %), 9 en 2018 (40,90 %) y 8 en 2019 (40 %) (tabla 1, figura 3). Con respecto a los cuidados paliativos e ingreso en la UHD se confirmó 1 caso en 2016, 1 en 2018 y 1 en 2019 (tabla 1).

DISCUSIÓN

La ICD es una enfermedad con una considerable morbimortalidad. Por eso, su diagnóstico preciso es vital para el manejo del paciente y el control de infecciones.

A propósito del diagnóstico, en nuestro centro, se optó por la detección de *Clostridium difficile* en 2 fases: inmunocromatografía para detección de GDH y biología molecular para la detección de secuencias nucleotídicas específicas de *C. difficile* toxigénico (*PaLoc*)¹. No se consideraron otras técnicas de detección como es la inmunocromatografía para la detección de toxina A o B, por suponer un exceso de gasto, así como tampoco por los cultivos, por presentar un considerable retraso a la hora de ofrecer resultados. Se propuso como protocolo de trabajo que el uso combinado de estas dos técnicas elegidas ofrecían sensibilidad y especificidad necesarias para el correcto estudio.



Con respecto al tratamiento entre vancomicina, fidaxomicina o metronidazol, se ha estudiado en multitud de ensayos, teniendo en cuenta aspectos como el coste, que la posibilidad de generar resistencias es alta y que es posible ser un desencadenante de resistencias cruzadas en otros microorganismos.

La aparición de recidivas postratamiento o la negativización de toxina (A, B o binaria) en heces es motivo de otro debate, al igual que la elección de uno u otro antimicrobiano, incluyendo el trasplante de microbioma fecal. Dicha consideración en la actualidad, y según las últimas recomendaciones científicas¹⁰, se presenta con niveles de evidencia muy a favor de la vancomicina y/o fidaxomicina (nivel de evidencia A-1, según la escala de Oxford).

Tras el análisis epidemiológico de las infecciones por *Clostridium difficile* en nuestro centro, podemos inferir que se debería proponer *de rutina o exercitatione* el estudio de este patógeno en ambiente extrahospitalario, como son las unidades de hospitalización domiciliaria.

Una vez más, y tras el análisis de los resultados, podemos demostrar un repunte de casos en 2016, un descenso de las cifras en 2017 y pocos casos en UHD. Valoramos un posible infradiagnóstico de casos en UHD por tratarse de pacientes paliativos que no están en un ambiente hospitalario, pero sí sometidos a cuidados sanitarios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alcalá-Hernández L, Mena-Ribas A, Niubó-Bosh J, et al. Diagnóstico microbiológico de la infección por *Clostridium difficile*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016; 34: 595-602.
2. Sunenshine RH, McDonald LC. *Clostridium difficile*-associated disease: new challenges from an established pathogen. *Cleve Clin J Med*. 2006; 73: 187-197.
3. Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2013; 31: 254-263.
4. Carroll KC, Bartlett JG. Biology of *Clostridium difficile*: implications for epidemiology and diagnosis. *Annu Rev Microbiol*. 2011; 65: 501-521.

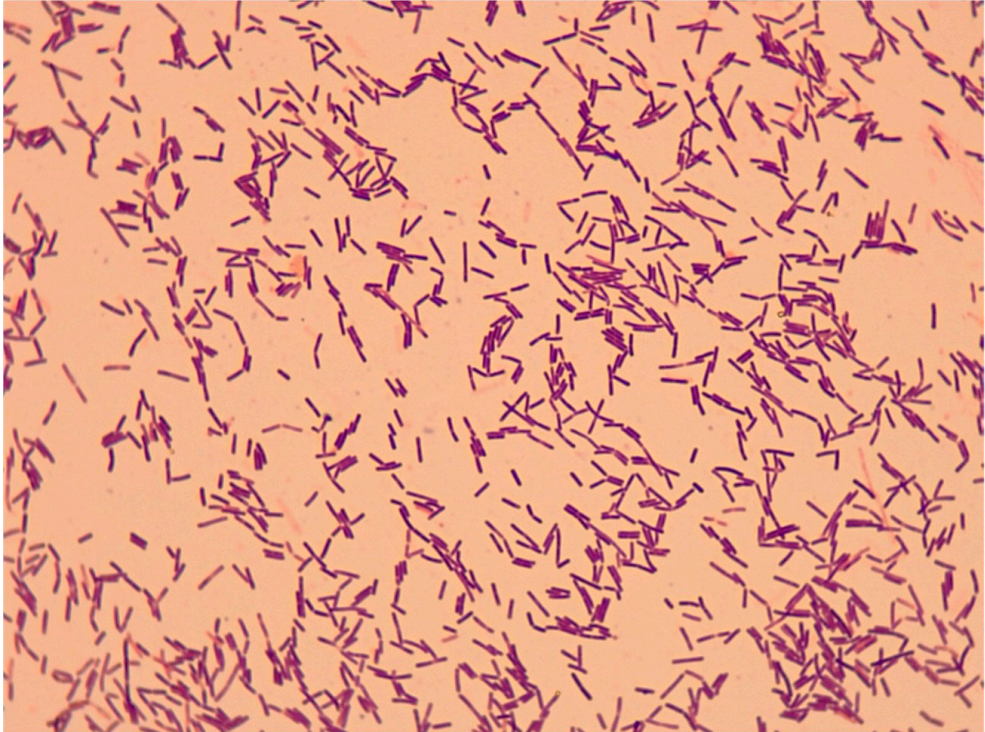


5. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010; 31: 431-455.
6. Crobach MJT, Dekkers OM, Wilcox MH, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing Clostridium difficile-infection (CDI). *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15: 1053-1066.
7. Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for Clostridium difficile infection (CDI). *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15: 1067-1079.
8. Wren MWD, Sivapalan M, Kinson R, et al. Laboratory diagnosis of clostridium difficile infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory. *Br J Biomed Sci.* 2009; 66: 1-5.
9. Le Guern R, Herwegh S, Grandbastien B, et al. Evaluation of a New Molecular Test, the BD Max Cdiff, for Detection of Toxigenic Clostridium difficile in Fecal Samples. *J Clin Microbiol.* 2012; 50: 3089-3090.
10. Oksi J, Anttila V-J, Mattila E. Treatment of Clostridioides (Clostridium) difficile infection. *Ann Med.* 2020; 52: 12-20.



ANEXO 1

FIGURA 1
Bacilos grampositivos 100 X M. O. Tinción de Gram



Fuente: Cortesía del Dr. Tomás García Lozano, Fundación Instituto Valenciano de Oncología, Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir.

ANEXO 2

TABLA 1

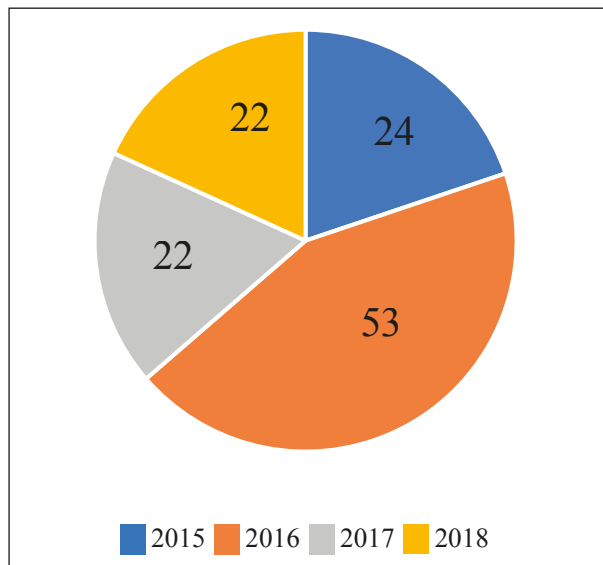
Casos registrados positivos para GDH (glutamato deshidrogenasa) positivos para PCR, % de positividad y positivos para UHD (Unidad de Hospitalización Domiciliaria)

	<i>GH+</i>	<i>GH+ PCR +</i>	% POSITIVIDAD	<i>UHD</i>
2015	24	11	45,83 %	0
2016	53	24	45,28 %	1
2017	22	8	36,36 %	0
2018	22	9	40,90 %	1
2019	20	8	40 %	1

ANEXO 3

FIGURA 2

Casos registrados positivos para GDH



ANEXO 4

FIGURA 3
Positividad en el diagnóstico de C. difficile

